

**PAT-NO:** JP403160980A  
**DOCUMENT-IDENTIFIER:** JP 03160980 A  
**TITLE:** APPARATUS FOR MONITORING CONTAMINATION OF VARIOUS GERM IN BIOPROCESS  
**PUBN-DATE:** July 10, 1991

**INVENTOR-INFORMATION:**

NAME	COUNTRY
AKASHI, TOMOYUKI	

**ASSIGNEE-INFORMATION:**

NAME	COUNTRY
SUMITOMO HEAVY IND LTD N/A	

**APPL-NO:** JP01299642  
**APPL-DATE:** November 20, 1989

**INT-CL (IPC):** C12M001/00 , C12M001/34 , G06F015/62 , H04N007/18

**US-CL-CURRENT:** 435/288.7

**ABSTRACT:**

**PURPOSE:** To always monitor contamination of various germs and proliferation of mutant series by converting image of a microorganism in bioprocess into image data using microscope and television camera and comparing the image data with normal image data.

**CONSTITUTION:** A culture medium 3 is charged into a bioreactor 1 and culture is carried out while stirring the culture medium 3 with a stirrer 2 and simultaneously part of culture medium 3 is taken out and circulated into the bioreactor 1 by a pump again. The culture medium 3 is monitored by a monitor device provided with a monitor part 5, microscope 7, television camera, etc., provided on the way to piping 4. Then germ cell in the culture medium 3 is enlarged by the microscope 7 and converted into an image signal by the television camera 8 and fed to an image treating device 10. Then the resultant image data are compared with normal image data by the image treating device 10 and proliferation of various germs or mutant series in the culture medium 3 is inferred therefrom and if abnormality is found,

process stopping signal is output to a control device 15 or alarm signal is sent to an alarm part 12 to give alarm and informed to operators.

COPYRIGHT: (C)1991,JPO&Japio

## ⑫ 公開特許公報(A) 平3-160980

⑥ Int. Cl.<sup>5</sup>

C 12 M 1/00  
1/34  
G 06 F 15/62  
H 04 N 7/18

識別記号

380

庁内整理番号

C 8717-4B  
A 8717-4B  
8419-5B  
B 7033-5C  
K 7033-5C

⑬ 公開 平成3年(1991)7月10日

審査請求 未請求 請求項の数 1 (全6頁)

⑭ 発明の名称 バイオプロセスの雑菌混入監視装置

⑯ 特 願 平1-299642

⑰ 出 願 平1(1989)11月20日

⑱ 発 明 者 明 石 友 行 東京都田無市谷戸町2丁目4番15号 住友重機械工業株式会社システム研究所内

⑲ 出 願 人 住友重機械工業株式会社 東京都千代田区大手町2丁目2番1号

⑳ 復代理人 弁理士 芦 田 坦 外2名

## 明 細 書

## 1. 発明の名称

バイオプロセスの雑菌混入監視装置

## 2. 特許請求の範囲

1. バイオリアクタに両端を流す培養液の循環路中に設けられた監視部と、

前記監視部に設けられ前記培養液中の微生物の画像データを形成する画像データ形成部と、

前記画像データを予め求められた正常時の画像データと比較し、前記培養液中の殺菌又は突然変異種の増殖を察知する画像処理部とを備えたことを特徴とするバイオプロセスの雑菌混入監視装置。

## 3. 発明の詳細な説明

〔産業上の利用分野〕

本発明は、バイオプロセスの雑菌混入監視装置に関する。

## 〔従来の技術〕

バイオプロセスにおいて、微生物を純粋培養し、目的の生産物を得ることが多い。この際培養器の中に雑菌が混入したり、突然変異種が急激に増殖すると、それまでの生産物や培養液を廃棄し、最初から培養しなおさなければならない。

このような、バイオリアクタ内における雑菌等の混入は、従来はオペレータが培養器からサンプルを取り出し顕微鏡観察することによって検知していた。

## 〔発明が解決しようとする課題〕

しかし、サンプルの取出しに時間がかかり、検査時間も長くなるので、常時監視することは、困難であり、その間雑菌が繁殖し、しばしば手遅れになることが多かった。

そこで、本発明の技術的課題は、これらの監視動作をオンラインで自動化し、常時監視のできるようなバイオプロセスの雑菌混入監視装置を提供することにある。

〔課題を解決するための手段〕

本発明によれば、バイオリアクタに両端を発する培養液の循環路中に設けられた監視部と、前記監視部に設けられ前記培養液中の微生物の画像データを形成する画像データ形成部と、前記画像データを予め求められた正常時の画像データと比較し、前記培養液中の雑菌又は突然変異種の増殖を察知する画像処理部とを備えたことを特徴とするバイオプロセスの雑菌混入監視装置が得られる。

#### 【実施例】

本発明の実施例について、図面を参照して説明する。

第1図(a)は本発明の実施例に係るバイオプロセスの雑菌混入装置を模式的に示す図である。

第1図(a)において、培養容器1(バイオリアクタ)に攪拌機2が設けられており、内部の培養液は均質に攪拌されている。培養液の一部を培養容器下部に両端が設けられた配管4により、ポンプ6を動作させて導きだし、再び培養器内に戻るように循環させる。

この配管4の途中に設けられた監視装置によっ

て、菌体が微視的に監視される。

監視装置は、監視部5と、顕微鏡7及びテレビカメラ8を備えた画像データ形成部と、画像処理部10と、モニタ11及び警報部12とを具備している。

培養液中の菌体の様子は、顕微鏡で拡大したのちテレビカメラで画像信号fv9に変換され、画像処理装置10に送られる。

モニタテレビ11には、オペレータ監視用画面が映出される。

画像処理部では、得られた画像が正常か否かを判定して制御装置15にプロセス運転停止信号fsを出すか、警報信号fwを警報部12に送り出し、警報を発してオペレータに知らせる。

このような構成の監視装置において、異常が検出された時点で制御部15の攪拌モータ制御信号fcが零となり、攪拌モータ23の回転が停止し、培養を中止する。

第1図(b)は第1図(a)の装置の監視部5の部分拡大図である。

— 3 —

第1図(b)において、配管4の一部が偏平に断面積を狭められた部分4aの下方に光源18及び収束レンズ17と、これに対向して顕微鏡の接眼レンズ16とが配されている。光源18からの光は、収束レンズ17を通過し、配管4の偏平部4aを通過して接眼レンズ16に入射する。

第2図(a)、(b)は本発明の実施例に係る画像処理部の動作説明に供する図である。

第2図(a)、(b)において、顕微鏡7によって得られた画像は、テレビカメラを通して濃度データに変換される。

第2図(a)において、画像処理部では、縦及び横を夫々M分割された各点(i, j)に濃度Xi,jを割り当てる。プロセスの運転に先立ち、正常な微生物の増殖時の画像を、画像処理部に入力し、このときのデータを用いて以下の計算を行う。

以下 余 白

— 5 —

— 4 —

$\hat{X}_{ij}$ は $X_{ij}$ の周りの $(2N+1)^2 - 1$ 個の濃度データ、 $X_{i-k,j-l}$  ( $k = -N \sim N$ ,  $l = -N \sim N$ ) ( $k \neq l \neq 0$ ) から推定した値でそれらの線形和として表される。

$$\hat{X}_{ij} = \sum_{k=-N}^N \sum_{l=-N}^N a_{kl} X_{i-k,j-l} \cdots (1)$$

$$(k \neq l \neq 0)$$

その推定誤差は、

$$e_{ij} = \hat{X}_{ij} - X_{ij}$$

であり、 $a_{kl}$ は第2図(a)のような正常微生物培養時の画像データ $X_{ij}$ から求める。その方法は、最小自乗法により、誤差の自乗和E

$$E = \sum_{i,j=1}^M e_{ij}^2 \cdots (2)$$

を最小にするように決定する。

但し、Mは1画面の縦、又は横の分割数を表す(第2図(a)参照)。

$a_{kl}$ の具体的計算方法は、次のようになる。

誤差の自乗和は(1)、(2)式を用いると、

— 6 —

$$E = \sum_{j=1}^M e_{jk}^2 = \sum_{j=1}^M (\hat{X}_{1j} - X_{1j})^2$$

$$= \sum_{j=1}^M \left[ \sum_{k=-N}^N \sum_{l=-N}^N a_{kl} X_{1-k, j-l} - X_{1j} \right]^2 \dots (4)$$

と表され、これを  $a_{pq}$  で偏微分すると、

$$\frac{\partial E}{\partial a_{pq}} = -2 \sum_{j=1}^M \left( \sum_{k=-N}^N \sum_{l=-N}^N a_{kl} X_{1-k, j-l} - X_{1j} \right) \times X_{1-p, j-q}$$

( $p = -N \sim N, q = -N \sim N, p \neq q \neq 0$ )

となる。

これを零とおいて、 $a_{pq}$  に関する連立方程式を解くと  $\hat{a}_{pq}$  が求まる。

計算の簡単な例として、 $N=1$  の場合は、手順を以下に示す。(1)式は、

$$\hat{X}_{1j} = \sum_{k=-1}^1 \sum_{l=-1}^1 a_{kl} X_{1-k, j-l}$$

$$= a_{-1,-1} X_{1+1, j+1} + a_{-1,1} X_{1+1, j-1} + a_{1,-1} X_{1-1, j+1} + a_{1,1} X_{1-1, j-1} \dots (1-1)$$

となる。これを(4)式に代入すると、

- 7 -

これらの4つの式=0とすると、 $a_{pq}$  に関する4つの連立方程式が得られる。

例えば、(5-1)式は、

$$a_{-1,-1} \sum_{j,k=1}^M (X_{1+1, j+1})^2 + a_{-1,1} \sum_{j,k=1}^M X_{1+1, j-1} \cdot X_{1+1, j+1}$$

$$+ a_{1,-1} \sum_{j,k=1}^M X_{1-1, j+1} \cdot X_{1+1, j-1} + a_{1,1} \sum_{j,k=1}^M X_{1-1, j-1} \cdot X_{1+1, j+1}$$

$$- \sum_{j,k=1}^M X_{1j} \cdot X_{1+1, j-1} = 0$$

となり、他の(3)式も同様である。

4つの連立方程式に対して未知数が  $a_{-1,-1}, a_{-1,1}, a_{1,-1}, a_{1,1}$  の4つであるから、次のように、これらの解を求めることができる。

$$a_{-1,-1} = a_1, a_{-1,1} = a_2,$$

$$a_{1,-1} = a_3, a_{1,1} = a_4,$$

$$X_0 = X_{1j}, X_1 = X_{1+1, j+1},$$

$$X_2 = X_{1+1, j-1}, X_3 = X_{1-1, j+1},$$

$$X_4 = X_{1-1, j-1}.$$

- 9 -

$$E_{1j} = \sum_{j=1}^M (a_{-1,-1} X_{1+1, j+1} + a_{-1,1} X_{1+1, j-1}$$

$$+ a_{1,-1} X_{1-1, j+1} - X_{1j})^2$$

$$= \sum_{j=1}^M A_{1j}^2 \dots (4-1)$$

となる。これを  $a_{-1,-1}, a_{-1,1}, a_{1,-1}, a_{1,1}$  で偏微分すると(5)式が得られる。

$$\frac{\partial E}{\partial a_{-1,-1}} = 2 \sum_{j=1}^M A_{1j} \cdot X_{1+1, j+1} \dots (5-1)$$

$$\frac{\partial E}{\partial a_{-1,1}} = 2 \sum_{j=1}^M A_{1j} \cdot X_{1+1, j-1} \dots (5-2)$$

$$\frac{\partial E}{\partial a_{1,-1}} = 2 \sum_{j=1}^M A_{1j} \cdot X_{1-1, j+1} \dots (5-3)$$

$$\frac{\partial E}{\partial a_{1,1}} = 2 \sum_{j=1}^M A_{1j} \cdot X_{1-1, j-1} \dots (5-4)$$

以下余白

- 8 -

とすると、連立方程式は次のようになる。

$$a_1 \Sigma X_1^2 + a_2 \Sigma X_1 X_2 + a_3 \Sigma X_1 X_3 + a_4 \Sigma X_1 X_4 - \Sigma X_0 X_1$$

$$a_1 \Sigma X_1 X_2 + a_2 \Sigma X_2^2 + a_3 \Sigma X_2 X_3 + a_4 \Sigma X_2 X_4 - \Sigma X_0 X_2$$

$$a_1 \Sigma X_1 X_3 + a_2 \Sigma X_2 X_3 + a_3 \Sigma X_3^2 + a_4 \Sigma X_3 X_4 - \Sigma X_0 X_3$$

$$a_1 \Sigma X_1 X_4 + a_2 \Sigma X_2 X_4 + a_3 \Sigma X_3 X_4 + a_4 \Sigma X_4^2 - \Sigma X_0 X_4$$

これをベクトル

$$a = (a_1, a_2, a_3, a_4)^T$$

$$b = (\Sigma X_0 X_1, \Sigma X_0 X_2, \Sigma X_0 X_3, \Sigma X_0 X_4)$$

$$X = \begin{pmatrix} \Sigma X_1^2 & \Sigma X_1 X_2 & \Sigma X_1 X_3 & \Sigma X_1 X_4 \\ \Sigma X_1 X_2 & \Sigma X_2^2 & \Sigma X_2 X_3 & \Sigma X_2 X_4 \\ \Sigma X_1 X_3 & \Sigma X_2 X_3 & \Sigma X_3^2 & \Sigma X_3 X_4 \\ \Sigma X_1 X_4 & \Sigma X_2 X_4 & \Sigma X_3 X_4 & \Sigma X_4^2 \end{pmatrix}$$

を用いて表すと

$$Xa = b$$

となり、

$a$  の推定値  $\hat{a}$  即ち、この方程式の解は、

$$\hat{a} = X^{-1}b$$

となる。

ただし、 $X^{-1}$  は  $X$  の逆行列である。

以下余白

- 10 -

次にプロセスの運転を行いそのときの画像データ(第2図(b)  $X_{ij}$ )を用いて、自己相関関数  $C_{kl}$  を計算する。

$$C_{kl} = \frac{1}{(2M+1)} \sum_{j=-M}^M X_{ij} X_{i-j, j-l} \dots (6)$$

による。

更に、上で求めた  $\hat{a}$  を用いて正常時との誤差の2乗和の期待値  $S$  を計算する。

$S$  の計算式は、

$$S = C_{00} - \sum_{p=-N}^N \sum_{q=-N}^N \hat{a}_{pq} C_{pq} \dots (7)$$

による。

なお、以上の計算式で、第2図(a)の  $i, j = 1$  のように、端の方に選ぶと  $X_{j-k, j-l}$  の値が存在しないところが出てくるが、この場合は、同じ画面が繰り返し現れると仮定することにより、 $X_{ij}$  が存在するかのような処理が行える。

一方、予め大きめに画面をとり、その一部分を、第3図(a)または第3図(b)のように、第2

図(a)に示すような部分とすることによっても同様な結果が得られる。

$S$  の値が小さい程得られた画像データが正常な増殖時のものに近いことになる。

もし、 $S$  が小さければ、得られた画像は第2図(a)と同じ正常状態で、 $S$  が大きければ第2図(b)のように、雑菌21または、突然変異種が混入していることになる。

そこで、予め実験によって、正常な  $S$  の上限値を決めておき、その値を閾値として正常、異常の判定を行う。その結果は、制御装置15、又は警報装置12に送られて、運転停止等の適当な処置が行われる。

#### 〔発明の効果〕

本発明によれば、バイオプロセスの微生物をオンラインで顕微鏡とテレビカメラによって、画像データにし、画像処理部によって、正常時の画像データと比較して雑菌の混入や、突然変異種の増殖を監視することのできるバイオプロセスの雑菌混入監視装置を提供することができる。

— 1 1 —

— 1 2 —

#### 4. 図面の簡単な説明

第1図(a)は本発明の実施例に係るバイオプロセスの雑菌混入監視装置を模式的に示す図、第1図(b)は第1図(a)の装置の監視部5の部分拡大図、第2図(a)、(b)は本発明の実施例に係る画像処理部の動作説明に供する図、第3図(a)及び(b)は本発明の実施例に係る画像処理部の画像処理方法の説明に供する図である。

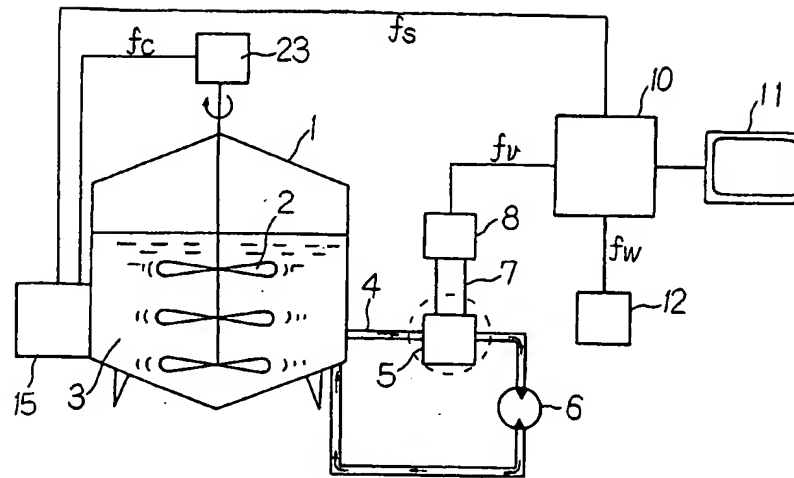
図中、1…バイオリアクタ、3…培養液、4…配管、5…監視部、6…ポンプ、7…顕微鏡、8…テレビカメラ、10…画像処理部、11…モニタ、12…警報部、15…制御部、16…接眼レンズ、17…収束レンズ、18…光源、20…正常微生物、21…雑菌、23…攪拌モータ。

発明人 (733) 発明者 池田 憲保

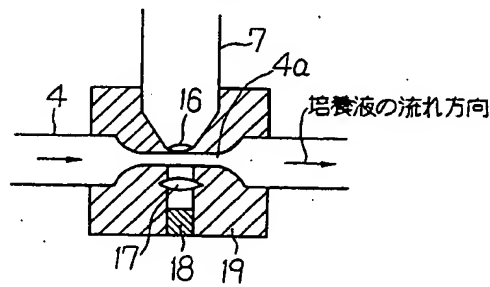


— 1 3 —

第1図(a)  
培養器と監視装置の概略図



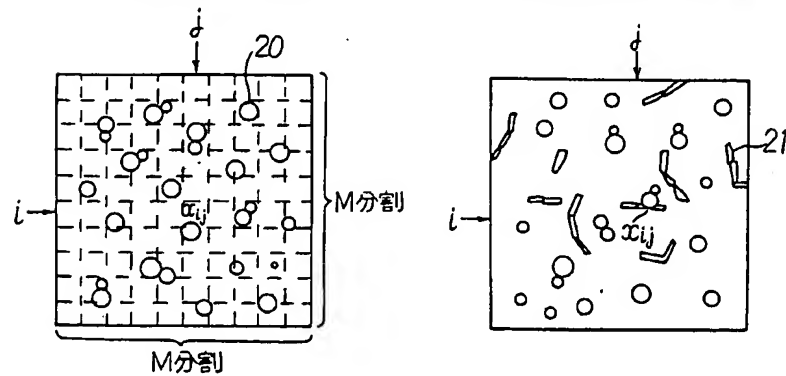
第1図(b)  
監視部部分的拡大図



第2図

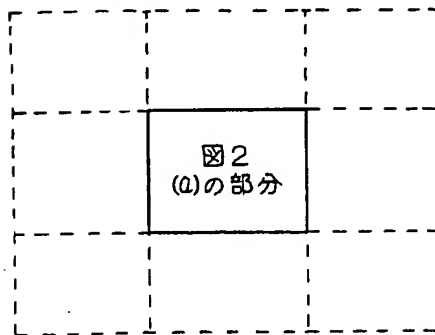
(a) 正常な培養状態

(b) 雑菌が混入した状態



### 第3図 (a)

同じ画面が繰返し現われるとしたとき



### 第3図 (b)

大きめに画面をとった場合

